

⑨ 日本国特許庁(JP)

⑩ 特許出願公開

⑪ 公開特許公報(A) 平2-120655

⑫ Int.Cl.<sup>5</sup>

識別記号

序内整理番号

⑬ 公開 平成2年(1990)5月8日

G 01 N 27/327

7363-2G  
7363-2G

G 01 N 27/30

3 5 3 J  
R

審査請求 未請求 請求項の数 1 (全3頁)

⑭ 発明の名称 グルコースセンサ

⑮ 特 願 昭63-273130

⑯ 出 願 昭63(1988)10月31日

⑰ 発 明 者 後 藤 正 男 神奈川県藤沢市辻堂新町4-3-1 エヌオーケー株式会社内

⑱ 発 明 者 高 津 一 郎 神奈川県藤沢市辻堂新町4-3-1 エヌオーケー株式会社内

⑲ 出 願 人 エヌオーケー株式会社 東京都港区芝大門1丁目12番15号

⑳ 代 理 人 弁理士 吉田 俊夫

要 約

1 発明の名称

グルコースセンサ

2 特許請求の範囲

1. 長さ方向に半載された中空針状対極の切断面に絶縁層を介してグルコースオキシダーゼ酵素固定化平板状作用極を酵素固定化面側を内側に向けて接合してなるグルコースセンサ。

3 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は、グルコースセンサに関する。更に詳しくは、アンペロメトリ型のグルコースセンサに関する。

(従来の技術)

従来のアンペロメトリ型グルコースセンサにおいては、2個の電極を必要としており、その内の1個は対極であり、他の1個は作用極であって、作用極にはグルコースオキシダーゼ酵素(GOD)が固定化されている。このセンサの原理は、グルコースとGODとの反応に伴ない作用極上で発生する電

極化電位を定電流することにより、グルコース濃度を決定し得る点にある。

ところで、グルコースセンサの一つの形態として、針状構造のものが挙げられるが、従来のアンペロメトリ型グルコースセンサでは、これら2個の電極が例えばガラス板などの平板状のものを平行に並べて構成させたものが代表的であり、生体内に挿入しあるいは血漿値などの測定に好適に使用し得る針状電極としたものは未だ実用化されていない。これは、形状そのものに起因する製作の困難さや酵素固定化の困難さに由来しているものと考えられる。

(発明が解決しようとする課題)

本発明の目的は、このような問題点を克服し、酵素固定化や製作の容易性が得られるアンペロメトリ型グルコースセンサを提供することにある。

(課題を解決するための手段)

かかる目的を達成せしめる本発明のグルコースセンサは、長さ方向に半載された中空針状対極の切断面に絶縁層を介してグルコースオキシダーゼ

酵素固定化平板状作用極を酵素固定化側を内側に向けて接着してなる。

図面の第1図には、本発明に係るグルコースセンサの一態様が接着力の状態を斜視図として示されている。即ち、針状対極1は、一般に外径が約1mm以下の白金、金、チタンなどの中空針の長さ方向の半載物2であって、その先端部3が挿入し易いように往針針状に磨切されている。そして、半載された切断面には、一般に接着力を兼ねた絶縁層4,4'、例えばエポキシ樹脂接着剤、シリコーン接着剤あるいはガラスなどが塗布されている。

一方、この絶縁層を介して中空針状対極に接着されるグルコースオキシダーゼ酵素固定化平板状作用極5は、厚さ約0.05〜1mm程度の白金、チタンなどの平板6であって、一般にその長さが対極切断面の長さ以下で、幅が切断面間隔に等しいものの片面側にGODを固定化7せしめている。

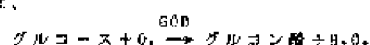
GODの作用極上への固定化に際しては、膜形成材料、例えば酢酸セルロースなどのセルロース類、ポリビニルピラール、ポリスルホンなどの合成

高分子物質、あるいはセルロース、キチン、アルブミン、アルギン酸ナトリウム、アガロース、カラギーナンなどの天然高分子物質が用いられ、それらを可溶性溶媒に溶解させたドロップ液として調製した後、浸漬法、ドロップ法、スピナ法などにより作用極面上に適用する。また、膜形成材料として、分子中に光架橋性基としてスチルバゾリウム基、ジアゾ基などの感光性基を有するポリビニルアルコールなどの水溶性光架橋性重合体なども水溶液として用いることができる。

これらの膜形成材料によって形成される膜上へのGODの固定化は、グルタルアルデヒド、カルボジミドなどを用いる共有結合法、イオン結合法、吸着法、架橋法など一般的に用いられている方法によって行われる。あるいは、膜形成材料の溶液中などにGODを混合しておき、膜形成時にこれらの固定化方法により固定化させることもできる。この場合、光架橋性重合体が用いられたときには、その光架橋はGODを失活させない波長である約350〜450nmの近紫外線による光照射によって行わ

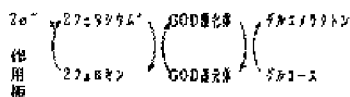
れる。

このような固定化GODによるグルコースの定量は、



なる反応により、生成した $\text{H}_2\text{O}_2$ を作用極での酸化電流値変化として検出する。

また、電子メディエータ(電子伝達体)であるフェロセン化合物、具体的にはフェロセン[ビス(シクロペンタジエニル)鉄(II)]またはその誘導体、例えば1,1'-ジメチルフェロセンなどを用い、それを作用極面上に真空蒸着させた後、この両端面にGODを一般的に用いられる固定化法によって固定化せしめ、あるいはGODを固定化させた後フェロセン化合物をそこに滴下法などで重層し、



この場合には、グルコース1分子が酸化されるのに、2電子の作用極への移動が行われるので、これを電流値変化として検出することができる。

かかるGOD固定化平板状作用極の中空針状対極への接着は、酵素固定化側が内側に向けられるようにして行われる。なお、対極および作用極からは、それぞれリード線8,8'が引き出されており、測定時には、これらの電極とは別に参照極も用いられる。

( 発明の効果 )

本発明に係る針状のアンプロメトリ型グルコースセンサは、グルコースオキシダーゼ酵素の固定化が平板状の作用極面上に対して行われるのでそこに困難性はなく、また針状電極という形状に起因する製作上の困難性も識別認められず、生体内に挿入し易く血管組などの測定に好適に使用し得るグルコースセンサとして提供される。

( 実施例 )

次に、実施例について本発明を説明する。

実施例

第1図に示された態様のグルコースセンサを製作した。中空針状対極は、内径0.8mm、外径1.0mm、長さ3mmの白金中空針を半載し、先端部を斜切し

たものであり、平板状作用極としては、 $1.0 \times 2.6 \times 0.2 \text{ mm}$ の寸法のものが用いられ、その片面側に GOD を固定化させた。

GOD の固定化は、GOD 30 mg および牛血清アルブミン 30 mg を pH 7.0 の 5mM トリス-マレイン酸緩衝液 0.4 ml に溶解し、その 4  $\mu\text{l}$  を平板状作用極面上に滴下し、4℃で4時間放置した後、そこに 1.1'-ジメチルフェロセンのアセトン溶液 4  $\mu\text{l}$  を滴下し、再び 4℃で4時間放置することにより行われた。

この GOD 固定化平板状作用極を、酵素固定化面側を内側に向けて、中空針状対極にその切断面に塗布されたエポキシ樹脂接着剤層を介して接着し、4℃で48時間放置した。

これらの各電極をポテンショスタットに接続し、対極-作用極間電位 50mV、作用極-参照極 ( $\text{Ag}/\text{AgCl}$  電極) 間電位 200mV として、グルコースに対する応答を測定した。測定は、37℃で pH 7.0 の 5mM トリス-マレイン酸緩衝液を使用して行われた。その結果は、第 2 図のグラフに示されるように、グルコース濃度 50~300 mg/dl の範囲内で、応答

電流の定常値との間に直線的な相関関係が認められた。

#### 4 図面の簡単な説明

第 1 図は、本発明のグルコースセンサの一態様を接着前の状態で示した斜視図である。また、第 2 図は、このグルコースセンサを用いた装置のグルコース濃度と出力電流との関係を示すグラフである。

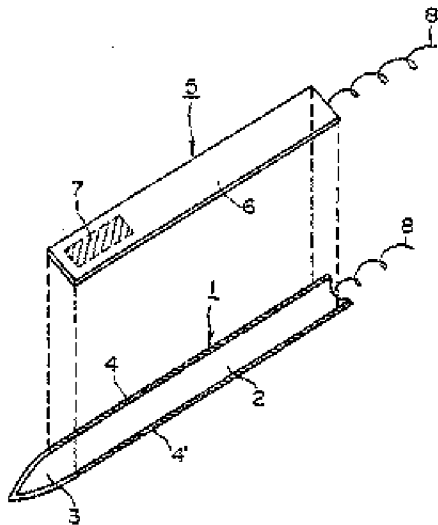
(符号の説明)

- 1.....針状対極
- 2.....中空針の半被物
- 4.....絶縁層
- 5.....GOD 固定化平板状作用極
- 6.....平板
- 7.....固定化 GOD

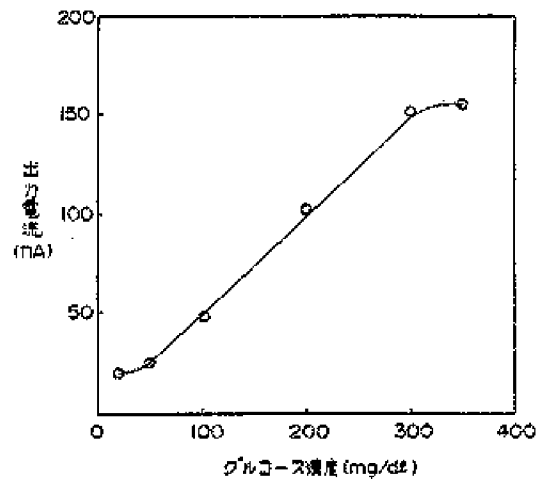
代理人

外理士 吉 田 俊 夫

第 1 図



第 2 図



## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : **02-120655**

(43)Date of publication of application : **08.05.1990**

(51)Int.Cl.

**G01N 27/327**

(21)Application number : **63-273130**

(71)Applicant : **NOK CORP**

(22)Date of filing : **31.10.1988**

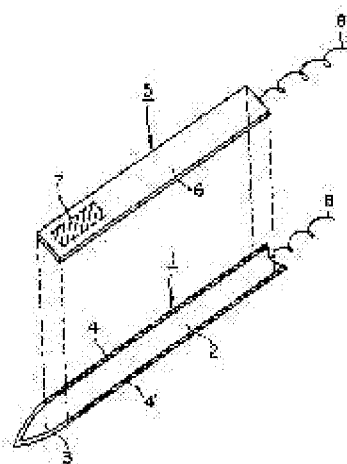
(72)Inventor : **GOTO MASAO  
TAKATSU ICHIRO**

### (54) **GLUCOSE SENSOR**

#### (57)Abstract:

**PURPOSE:** To facilitate the immobilization of enzyme and manufacturing by a method wherein a glucose oxidase immobilizing flat plate-shaped acting electrode is bonded to the cut surface of a hollow needle like opposed electrode through an insulating layer in such a state that the enzyme immobilizing surface of the acting electrode is turned toward the inside.

**CONSTITUTION:** A hollow needle like opposed electrode 1 is formed by obliquely cutting the leading end part of the half cut body of a platinum hollow needle. Glucose oxidase (GOD) 7 is immobilized on the single surface of a GOD immobilizing flat plate-shaped acting electrode 5. The acting electrode 5 is bonded to the electrode 1 through the epoxy resin adhesive layer applied to the cut surface of the electrode 1 so that the enzyme immobilizing surface of the acting electrode 5 is turned toward the inside. By this method, a sensor easy in the immobilization of enzyme and manufacturing, easily inserted in a living body and suitable for measuring a sugar level in blood is obtained.



### LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's  
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office